

作者姓名：叶萌

专业名称：森林培育

指导教师：罗承德

论文题目：黄柏剥皮再生机理及其影响因素

作者简介：叶萌，女，副教授，硕士生导师。1982年毕业于西南农业大学园艺系，毕业后曾在雅安市农业局、中央农业广播电视学校雅安市分校工作。现四川农业大学林学院园艺学院林学系任教，主要从事经济林、野生植物等教学科研及推广工作。主持国家“十五”科技攻关项目“医药创新与中药现代化”的子课题“川黄柏规范化种植（GAP）”、校市合作项目“青花椒的开发利用”、四川省林业厅“无公害蕨菜、鲜食枣、竹荪质量技术标准和操作规程”、四川省教育厅“黄柏剥皮再生研究”等项目。在《核农学报》、《林业科学》等发表文章 26 篇，其论文主要创新点如下：提出了黄柏剥皮后新皮的再生是高级层次上，结构和组织重新发育的“新建再生（epimorphosis）”；黄柏可以剥皮再生的关键是短期内新生组织可将光合同化物输送到根系，剥皮对黄柏的生理影响是暂时的；确定了影响黄柏剥皮再生的关键因素、重要因素和次要因素，提出了解膜时间的综合指标。

摘 要

生物的“再生”现象和机制是发育生物学的研究热点。再生在动物领域已经有了突破性进展，可望在不远的将来对于人类的某些疾病实现“人造器官”的移植，实现保障人类健康、延续人类生命的目的。植物领域以细胞的全能性理论和组织培养技术顺利克隆出以几何级数增加的植物种类和数量。广义的剥皮再生包括果树的环剥（0.3~0.5cm）和皮用类林木主干大面积剥皮（>50cm），狭义的剥皮再生指后者。有关剥皮再生的理论基础研究缺乏，实践应用难度很大，已有报道的树种有杜仲、关黄柏（*P. amurense*）、厚朴、肉桂等，再生机理的研究主要集中在解剖学方面，探索了新皮的起源，却未能揭示树干大面积剥皮后不死这一核心问题。因而，研究剥皮再生的机理，对于完善发育生物学中植物再生的相关理论、揭示林木剥皮再生的生命过程具有重要的理论意义。由于皮用类经济林木生长期长（10~15a），资源利用速度远远大于生长速度，剥皮再生技术对于提高皮类林木的生产力，实现资源的可持续利用，稳定退耕还林成果具有重要的现实意义。

黄柏（*Phellodendron chinense*）是中国传统的皮用类中药材和提取小檗碱的主要原料，四川

的道地药材和乡土树种，已经有 2000 多年的药用历史，也是传统的出口商品。黄柏皮为临床常用的清热燥湿的中药，用途广泛，市场需求量大，可制成多种中成药，化妆品、生物农药等，对人民的生活健康具有重要价值。黄柏也被认为是难以剥皮再生的树种，从 2002 年至 2006 年，在四川省黄柏栽培现状调查以及实施规范化种植研究的基础上，针对剥皮再生的理论问题和现实问题，设立四川的荣经、雅安、洪雅、沐川、大邑 5 县（市）为研究区，以发育生物学为理论指导，黄柏（*P. chinense*）为供试材料，采用定位观察法、光镜和电镜技术、¹⁴C 同位素示踪技术、现代光合测定技术、叶绿素荧光动力学技术，HPLC 法研究了黄柏剥皮后新皮的形态发生和组织发生过程；剥皮对同化物在树冠的分配以及在新生韧皮部的运输；剥皮对光合特性和叶绿素荧光的影响，剥皮对生长和性能的影响，以及影响黄柏剥皮再生的因素，旨在完善植物再生理论，揭示林木剥皮再生机理，形成剥皮再生技术体系，并应用于生产。主要研究结果如下。

1、黄柏剥皮再生的形态学和组织发生学

（1）黄柏剥皮后包裹透明聚乙烯膜，其外观形态经历如下变化过程：刚剥皮的木质部呈黄白色，光滑而湿润，3~4d 表面产生乳白色的愈伤组织，7d 左右，愈伤组织逐渐变为浅绿色，并逐渐扩展。30d 表面形成浅褐色膜状栓质层，其下为绿色组织；60~120d，栓质层逐渐增厚，表面粗糙，凹凸不平，形成褐色保护层，其下为绿色活组织。第 2a 褐色栓皮增厚，呈块状脱落。第 3a 再生皮的颜色、裂纹和厚度和原树皮相似，其分界处不明显。因此，黄柏剥皮后在包裹的条件下可再生新皮，再生皮的外观形态和原皮相似。

（2）黄柏幼茎和原皮的解剖学特点。幼茎绿色，近圆形，初生结构由表皮、基本组织和维管束三部分构成，其中表皮无表皮毛和气孔，皮层中有分泌囊（精油腔）和成团的石细胞分布，皮层薄壁细胞中含有叶绿体，维管束为典型的外韧维管束，初生韧皮部中有纤维带和成团的石细胞，木质部有木射线，茎中部为髓；8 年生树皮由周皮、挤缩的皮层、失去功能的韧皮部和有功能的韧皮部组成，周皮有 7~8 层，韧皮部也有 7~8 条与树木年龄相对应带状纤维束，呈年轮状，在无功能的韧皮部和皮层内有成团的石细胞分布。

（3）黄柏再生皮的组织发生学。黄柏树皮剥离时大部分形成层细胞随树皮剥离。木质部外缘为未完全发育成熟的木质部薄壁细胞、导管、管胞及木射线，以及残存的形成层细胞。3~7d 木射线细胞和木射线之间的未成熟木质部细胞开始分裂形成愈伤组织；15~20d，表层下 2~3 层细胞转化为木栓形成层细胞；30~60d，在木质部与愈伤组织的结合部位形成具有 4~6 层细胞的维管形成层区。新生韧皮部中出现散生的石细胞团和韧皮纤维。

表层下的愈伤组织形成木栓形成层；未成熟木质部细胞恢复分裂能力形成维管形成层；木栓形成层的发生早于维管形成层；3a 再生皮和原皮的解剖结构基本相似。

(4) 在浅绿色愈伤组织的细胞内有大量叶绿体，叶绿体发育分为三个时期：初期、中期和晚期。初期叶绿体多集中在细胞质膜处，看不到基粒和片层；中期出现淀粉粒，并开始增大，可见基粒和片层；后期，淀粉粒迅速增大并撑破叶绿体，叶绿体裂解。

黄柏剥皮后在一定条件下可再生新皮。其新皮的再生经历了新细胞的形成，分生组织的重新建构，由新的木栓形成层和维管形成层分裂形成周皮、次生木质部和次生韧皮部，最后形成新树皮的过程。其再生不是简单的依靠存留组织的重新分配和构建的“变形再生”，而是在高级层次上的结构和组织重新发育的“新建再生”。研究结果充实了植物的再生理论；从解剖学角度揭示了剥皮再生的机理。

2、剥皮对黄柏光合特性和¹⁴C同化物运输和分配的影响

(1) 黄柏剥皮后光合速率 (P_n) 显著下降，第15d达到最低水平，蒸腾速率(Tr)在剥后1d迅速下降至最低水平，在第20d都基本恢复至正常水平；叶绿素荧光在暗适应条件下，最大量子效率 Φ_{PO} 实际量子效率 Φ_p 和光化学猝灭系数 q_p 均在剥后15d达到最低水平，在20d恢复或接近正常水平。表明剥皮显著降低光合作用和蒸腾作用，但未对光系统II造成明显的结构和功能性破坏；剥皮后光合作用在一定时间内下降，其原因是由于剥皮阻断叶片光合产物向下运输，在叶片上积累产生的对光合过程的反馈抑制，一旦光合碳同化物向下运输的功能恢复，反馈抑制随即解除，光合、蒸腾作用迅速恢复到正常水平。

(2) 黄柏¹⁴C同化物的平均运输速率为50.2 cm/h。未剥皮黄柏树冠不同部位的功能叶¹⁴C同化物分配为：中部功能叶>上部功能叶>下部功能叶；剥皮后，同化物分配规律发生改变：上部功能叶>中部功能叶>下部功能叶。剥皮后15d，¹⁴C同化物经剥皮部位的新生组织向下运输到根系。

研究结果揭示了“树不怕剥皮”的实质，即剥皮虽然暂时降低了黄柏的光合作用，阻断了同化物的下行，改变其在树冠上的分配，但是当剥面长出新组织时，同化物经新生的韧皮部输送到根系，黄柏的光合功能和同化物分配恢复到剥前状态，树体的生命活动自然能够正常进行。

3、剥皮对黄柏生长和性能的影响

(1) 黄柏2a和3a再生皮与原皮的盐酸小檗碱含量与原皮差异不显著，分别为 61.3784mg.g⁻¹，62.6545mg.g⁻¹和 61.8816 mg.g⁻¹。盐酸药根碱含量分别为 0.4815 mg.g⁻¹、0.4600 mg.g⁻¹和 0.2231 mg.g⁻¹，再生皮含量极显著大于原皮；盐酸巴马汀含量分别为 0.1004 mg.g⁻¹、0.0904 mg.g⁻¹和 0.1621 mg.g⁻¹，三者差异不显著。因此，再生皮可作为提取小檗碱的原料和药材。

(2) 黄柏剥皮后导致叶片不同程度黄化，落叶提前 1 个月左右；次年春季萌芽延迟 10d 左右，仍能正常开花结实；第 3a 生长即恢复正常。剥皮后第 3a，树皮的厚度依次为 3a 再生皮>原皮>2a 再生皮>1a 再生皮。3a 后再生皮厚度极显著大于原皮。

(3) 剥皮后新皮的再生是从愈伤组织形成—表面木栓化—形成新周皮和新韧皮部的过程。在刚剥皮和愈伤组织阶段，任何微小触碰都将造成剥面组织坏死或真菌感染；解膜后至表面木栓层形成期间，易发生新生组织边缘的萎缩或感染。组织坏死和真菌感染是解膜后愈合率下降的主要原因。

4、影响黄柏剥皮再生的因素

影响因素有包扎、剥皮方式、剥皮时间、包膜时间、剥皮强度、剥皮方法、剥皮操作、剥皮天气、树龄、树体状况和生长调节剂共 10 项。经统计分析检验，包扎、操作、树干状况、剥皮和包膜时间共 5 项因素对再生有显著或极显著的影响，据此建立多元线性模型。至于树龄、剥皮强度和剥皮天气对再生的影响则不显著。

影响剥皮再生的 10 项因子，根据其重要程度划分为关键因素、重要因素和次要因素。

(1) 剥皮再生的关键因素包括包扎、操作、树干状况，其重要性依次为：包扎 > 操作 > 树干状况；薄膜包裹是黄柏剥皮再生的前提；粗放操作是剥皮再生失败的主要因子，也是导致愈合率下降的关键原因；由于树干不平滑使薄膜和树干间有缝隙，造成雨水渗入，节疤处不能形成愈伤组织等等而间接影响剥面的愈合。

(2) 重要因素有剥皮和包膜时间，剥皮过早或过迟，包膜时间太短或太长均不利于伤口愈合。包膜天数和剥皮后的颜色与积温关系密切，气温越高，所需包膜时间越短，反之亦然。结合季节、物候和生长发育等多因素，剥皮时间以 5 月下旬~7 月上旬为宜。若 5 月下旬~6 月上旬剥皮，包膜 10~15d，而 6 月下旬~7 月上旬剥皮，则需 5~10d。剥面的浅绿色是解膜的关键形态指标，还应结合该指标确定适宜的包膜时间。

(3) 剥皮长度、剥皮天气 树龄因素为次要因素，对再生影响不大，可根据市场需要的药材规格以及是否便于剥皮操作，确定剥皮长度；晴天、阴天和微雨天均可剥皮；黄柏的树龄对再生没有影响，从 2 年生到 12 年生树均可剥皮。

(4) 在包膜的条件下，全剥和纵向留树皮两种方式均能获得好的愈合率，但它们的剥面愈合情况完全不同。全剥在短时间内愈伤组织覆盖剥面 90% 以上，以后逐渐下降，树干保持顺直，新皮形态与原皮相似，但受操作和树干状况影响较大。纵向留树皮剥皮在短时间内愈伤组织覆盖剥面不到 50%，以后新皮面积逐渐增加。由于留树皮保留了运输通道，故剥面愈合受人工操作和树干状况的影响较小，不过此法导致树干和新皮发育畸形。

5、黄柏剥皮再生技术体系

剥皮再生技术体系主要包括多点试验和剥皮再生经营措施。

(1) 多点试验。荣经、雅安、洪雅、沐川、大邑 5 个黄柏主产区的剥皮成活率均在 80% 以

上。沐川的成活率最高，达 88.7%，雅安最低，仅 50.0%，造成雅安和沐川黄柏成活率差异的主要原因是管理水平。雅安黄柏栽植后未进行修枝、施肥等管理，导致树干不直，节疤多，枝下高较低，包膜不易严密，造成渗水感染，节疤处难以形成愈伤组织或戳破薄膜等。沐川黄柏属于农户自有，长于农户附近，树下多种植农作物，以耕代抚，管理较好，树体健壮端直。

(2) 剥皮再生经营措施包括环境、立地条件、管理、剥皮时间、剥皮方式、解膜时间六个方面。其要点：剥皮的黄柏应满足无公害产地环境条件，按规范化种植技术规程（SOP）种植；树干应通直健壮、枝下高 3m 左右，无病虫害；采用“三刀法”，刀具和手勿触碰剥面，切口深度刚及木质部，透明聚乙烯膜包裹并扎紧，适宜时间（5~7 月）剥皮，根据剥皮季节和温度确定解膜时间（5~15d）；剥皮前一周按每株施入尿素 50g + 过磷酸钙 250g 或复合肥 50~100g（氮：磷：钾=15：15：15），剥后一个月检查愈合率，低于 60%，采用留桩 20cm 砍伐，保留一枝新梢更新，病害感染用小刀刮除病斑，喷 70% 甲基硫菌灵 800 倍液或 80% 多菌灵 800 倍液。

研究表明，黄柏属于剥皮再生较困难的树种，但在良好的管理和操作下可再生新皮，当年末成活率可达 80% 以上；农民科技意识的提高和剥皮再生操作技术规程（SOP）的制定将推动该技术在黄柏产区推广，促进皮类林木资源的可持续发展。

关键词：黄柏 剥皮再生 解剖学 ^{14}C 同位素示踪 影响因素 剥皮再生技术体系